

# A EVOLUÇÃO DAS ENZIMAS COAGULANTES

A coagulação do leite é o processo que consiste na transformação do leite em estado líquido para gel, também conhecida como coalhada. Este processo é decorrente de modificações físico-químicas nas micelas de caseína, que podem ocorrer por meio de acidificação ou por ação enzimática.

A coagulação ácida é obtida por via biológica através da produção de ácido láctico pelas bactérias do fermento ou pela adição direta de ácidos orgânicos ao leite. Este tipo de coagulação é usada em número limitado de tipos de queijos, sendo os mais conhecidos deles o petit suisse e o cream cheese.

A coagulação enzimática do leite é o processo mais utilizado, e é realizado por meio da adição de enzimas específicas, conhecidas como coalho ou coagulante. A denominação coalho é reservada para as enzimas obtidas do quarto estômago de ruminantes como, por exemplo, o coalho bovino. Neste extrato animal existem duas principais enzimas: a quimosina e a pepsina, que alteram seu percentual conforme a idade do animal (quanto mais avançada a idade, menor o conteúdo de quimosina). Por outro lado, a denominação coagulante fica direcionada a todas as enzimas utilizadas na coagulação do leite obtidas por meio diferente do coalho (quarto estômago de ruminantes) como, por exemplo, os coagulantes vegetais e microbianos.

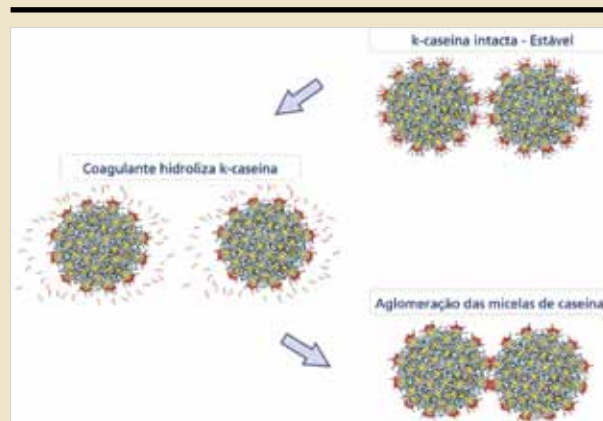
Historicamente, foi apenas em 1874 que um bioquímico dinamarquês chamado Christian Ditlev A. Hansen conseguiu padronizar a qualidade

de um coalho, por meio da obtenção de um líquido de poder coagulante definido. Quase 100 anos após esta descoberta, em 1972, era produzido nos Estados Unidos um coagulante microbiano a partir do fungo *Rizomucor miehei*, uma protease ácida capaz de coagular o leite. Em 1989 foi lançado o mais inovador coagulante conhecido até então, o CHY-MAX®, produto à base de 100% de quimosina bovina produzida por meio de fermentação de um fungo. Recentemente, em 2009, foi descoberta uma nova geração de quimosina (CHY-MAX® M), ainda superior à quimosina bovina da primeira geração, devido à sua maior especificidade e menor atividade proteolítica.

De fato, independente do tipo de enzima empregada para a coagulação do leite, todas são capazes de coagular o leite, até mesmo a enzima bromelina ou papaína, extraídas respectivamente do abacaxi e do mamão. Porém, atualmente, o critério empregado para escolha de um coalho ou coagulante não fica restrito apenas ao fato de coagular o leite, parâmetros como rendimento econômico na fabricação, valor obtido do soro, durabilidade do queijo, formação de sabor amargo no produto final, certificação Kosher e Halal são fundamentais para esta decisão.

Para o entendimento destes fatores faz-se necessário esclarecer o mecanismo de formação da coalhada por meio de suas fases. Na primeira fase da coagulação, evidenciada na Figura 1, ocorre o ataque da enzima coagulante à fração k-caseína, camada externa da caseína, com consequente liberação de uma fração protéica denominada caseína macropeptídeo. Esta fração liberada é solúvel e, por isso, se perde no soro afetando diretamente o rendimento na fabricação dos queijos. Uma proteólise mais elevada nesta fase, como ocorre com o uso de outras enzimas diferentes da quimosina, provoca o rompimento de várias ligações peptídicas e uma solubilização importante das proteínas que, fatalmente, serão perdidas no soro. Isto induz à obtenção de coágulos com ligações de baixa tensão ou muito fracas, com consequentes perdas de sólidos para o soro da fabricação, em outras palavras, com redução do rendimento.

FIGURA 1 - PRIMEIRA FASE DA COAGULAÇÃO ENZIMÁTICA DO LEITE

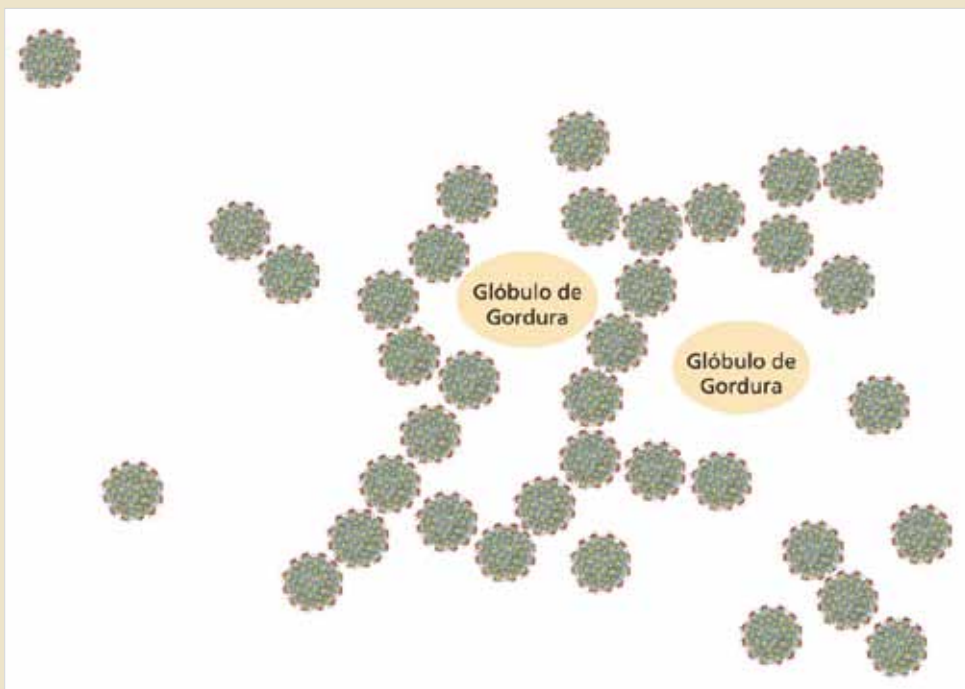


Na sequência, observa-se a segunda fase que corresponde à formação do gel de coalhada, conforme ilustrado na Figura 2, onde todos os componentes (proteínas, gordura, lactose e sais minerais) são aprisionados em uma estrutura de gel, a qual após o processo de corte e demais tratamentos dão origem aos queijos.

uma propriedade que pode conduzir a pelo menos, três consequências negativas na fabricação de queijos:

- diminuição do rendimento de fabricação;
- formação de sabor amargo;
- amolecimento do queijo durante a estocagem.

**FIGURA 2 - SEGUNDA FASE DA COAGULAÇÃO ENIMÁTICA DO LEITE**



Já a terceira e última fase corresponde à participação da enzima na maturação do queijo, evidenciando que sua ação pode conduzir à formação de sabor amargo, quando excessivamente proteolítico. É esta proteólise limitada, comparativamente às demais enzimas, que faz da quimosina a enzima de referência para a coagulação do leite. As demais enzimas, sejam de origem vegetal, microbiana ou animal, possuem uma atividade proteolítica mais elevada,

Um coagulante 100% quimosina, como por exemplo, o CHY-MAX®, é também conhecido como FPC - *Fermentation Produced Chymosin* - ou Quimosina Produzida por Fermentação a partir do fungo *Aspergillus niger* var. *awamori*.

Processo semelhante é empregado para a produção do mais eficiente coagulante conhecido até hoje, o CHY-MAX® M, ganhador do prêmio de ingrediente lácteo mais inovador na Food Ingredients Europe 2009.

Trata-se da segunda geração de Quimosina Produzida por Fermentação da Chr. Hansen, com especificidade ainda maior que a quimosina bovina da primeira geração.

Uma série de trabalhos práticos já foram realizados em várias partes do mundo, inclusive no Brasil, onde muitas indústrias já o adotam para a coagulação de diversos tipos de queijos. Os resultados destes trabalhos mostram ganhos no rendimento ao redor de 1% quando comparado ao coagulante microbiano e, de até 4.0%, se comparado ao coalho bovino, conforme evidenciado no quadro abaixo.

O aumento de rendimento obtido com o uso do CHY-MAX® M é atribuído à menor atividade proteolítica da segunda geração de quimosina. As enormes vantagens trazidas por esse ingrediente revolucionário - CHY-MAX® M -, tornam a sua utilização um negócio altamente rentável aos fabricantes de queijos, já que o alto rendimento expresso diretamente em quilogramas adicionais de queijos obtidos por toneladas, o maior *shelf life* desses queijos e a pureza do soro obtido são garantia do bom investimento.

Vale a pena ressaltar a tendência do mercado de soro, que cada vez mais tem restringido a presença de resíduos de origem animal (coalho bovino) neste produto.

Por todas essas razões, o CHY-MAX® M tem sido considerado um ingrediente inovador para a indústria laticinista.

\* Lúcio Antunes é gerente da Divisão Laticínios; Michael Mitsuo Saito é consultor técnico, da Chr. Hansen.

COMPARATIVO DE RENDIMENTO EM RELAÇÃO AO CHY-MAX® M		
Tipo de coagulante / coalho	Ganho percentual com CHY-MAX® M	Kg de queijo adicional por tonelada de produção com CHY-MAX® M
CHY-MAX®	0.4 – 0.6%	4 - 6 kg
Microbiano (Rizomucor miehei)	Ao redor de 1.0%	10 kg
Coalho bovino	3.5 – 4.0%	35 – 40 kg



*Improving food & health*

**Chr. Hansen Indústria e Comércio Ltda.**

[www.chr-hansen.com.br](http://www.chr-hansen.com.br)

# ENZIMAS DA DANISCO NA FERMENTAÇÃO

## INTRODUÇÃO

O processo para produção de cerveja depende de enzimas. As enzimas do malte (cevada maltada) catalisam a hidrólise de lipídios, proteínas, amido e das paredes celulares do endosperma, durante a maceração.

A cevada maltada é a fonte tradicional de enzimas para fermentação. No entanto, os fabricantes de cerveja frequentemente precisam trabalhar com maltes de qualidade inferior à ideal. Isso pode trazer dificuldades, tais como rendimento reduzido de extrato, má separação do mosto, fermentação lenta ou incompleta, difícil filtração, além de uma cerveja inferior, em termos de sabor e estabilidade.

Para se atingir um desempenho consistente e eficiente para a cervejaria, enzimas exógenas podem ser utilizadas para complementar

as enzimas do malte e, em alguns casos, proporcionar atividades adicionais, que não estejam essencialmente presentes no malte.

Uma outra forma para se obter a redução de custos e possibilitar a produção de grandes volumes é a utilização de adjuntos. Trata-se de carboidratos usados como fonte adicional de substrato para a fermentação. Alguns exemplos de adjuntos mais utilizados na cervejaria são: cevada não maltada, trigo, milho, sorgo, arroz, açúcares e xaropes.

Entretanto, como os adjuntos não contêm enzimas como o malte, o uso

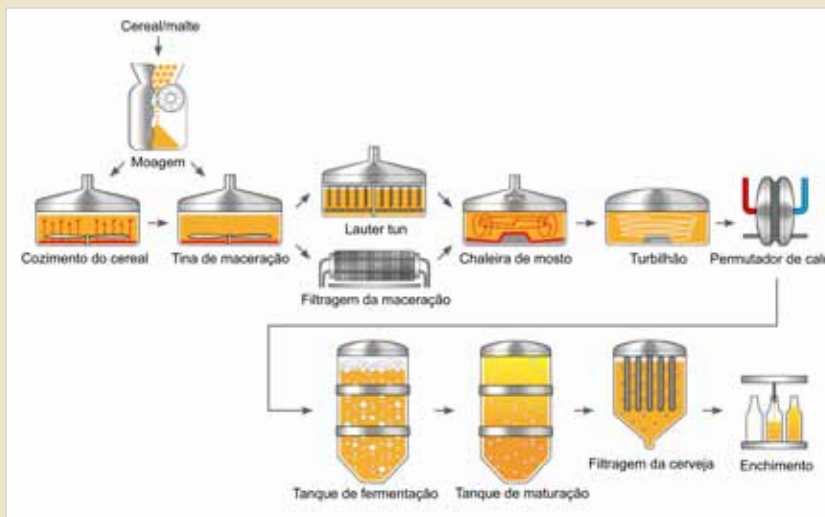
de enzimas torna-se necessário para possibilitar a utilização eficiente de uma ampla linha de adjuntos, bem como para produzir cervejas com atributos específicos, como cervejas com alto grau de atenuação, ou *light*.

A Danisco oferece um portfólio de enzimas inovadoras, que permitem aos fabricantes de cerveja do mundo inteiro desenvolverem e manterem processos eficientes, com alta produtividade e qualidade, considerando-se as variações

ser afetado negativamente por uma série de fatores, tais como: polissacarídeos não amiláceos, com elevado peso molecular; que dificultam a separação do mosto; amido granular pequeno, que pode não se gelatinizar em temperaturas normais de sacarificação, de maceração e proteólise incompleta, possivelmente resultando em baixo teor de nitrogênio  $\alpha$ -amino, etc.

Para se obter o máximo de extrato nos casos em que altos níveis de adjun-

tos são utilizados, os fabricantes de cerveja podem adicionar um blend equivalente ao malte de  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase e protease, diretamente no tanque de maceração. Essas atividades enzimáticas devem ser utilizadas em condição que possa incluir uma etapa de proteólise



das matérias-primas locais. As soluções Danisco para cervejaria asseguram melhoria de extrato, liquefação dos adjuntos, separação do mosto, fermentação eficiente, filtração da cerveja, estabilização e produção de cervejas especiais.

## MACERAÇÃO

O grande desafio da indústria cervejeira é a busca contínua por alta produtividade, ou seja: trabalhar com grandes volumes, maximizar o rendimento de extrato e minimizar o tempo de filtração, sem perder qualidade.

O bom desempenho produtivo pode

ser realizado a 45°C a 55°C, seguida por uma ou duas etapas de sacarificação a 60°C a 72°C e uma etapa final a 74°C a 78°C.

O tempo e as temperaturas são de importância crítica, especialmente para a proteólise e as etapas finais. Tempo insuficiente ou temperaturas excessivamente altas durante a proteólise resultam em uma quebra incompleta das proteínas e da matriz de  $\beta$ -glucano que envolve os grânulos de amido, reduzindo assim a quantidade de amido disponível para a conversão, resultando em baixo rendimento de extrato. Se a temperatura for muito baixa nas etapas finais, o



amido residual não gelatinizado poderá ser carregado para o equipamento de cozimento (Kettle), sem ser convertido. Se a temperatura for muito alta, a  $\alpha$ -amilase será desnaturada e, embora o amido residual possa estar gelatinizado, ele não será convertido. A presença de amido não convertido, vindo da maceração, resulta no baixo rendimento e na possível turbidez da cerveja. Isso pode ser evitado com a adição de uma  $\alpha$ -amilase mais termoestável na maceração.

Pode ser necessária uma atividade proteolítica, quando a cervejaria usa certos adjuntos ou malte de baixa qualidade para otimizar a extração e ajustar a taxa do nitrogênio solúvel para o crescimento da levedura. A atividade proteolítica excessiva pode ter um efeito negativo sobre as proteínas estabilizantes da espuma da cerveja, enquanto o aumento excessivo do nitrogênio solúvel do mosto pode afetar a formação de éster na cerveja.

### **BENEFÍCIOS DA ALPHALASE™ AP3**

A Alphasase™ AP3 é uma mistura de enzimas de maceração que contém atividades de  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -glucanase e proteinase. Essa enzima foi desenvolvida especificamente para ser usada em formulações com níveis consideráveis de adjuntos, ou com malte de baixa qualidade.

### **COZIMENTO DE COMPLEMENTOS**

Cereais como o milho e o arroz são adjuntos comuns usados na cervejaria. As temperaturas de gelatinização do amido exigidas por esses cereais são mais altas do que aquelas usadas na sacarificação, durante a maceração.

Para se garantir a gelatinização e a liquefação completas do amido adjunto, é necessário cozinhar o adjunto, antes de adicioná-lo ao macerado. A liquefação do complemento é tradicionalmente realizada pela adição de uma determinada quantidade de malte ao tanque de cozimento de adjunto. O adjunto de cereal é geralmente macerado com a enzima, em uma temperatura inicial, relativamente

baixa, de 45°C a 55°C. A temperatura do tanque é então elevada para >90°C por 15 a 20 minutos, até a completa gelatinização e liquefação. O adjunto cozido é adicionado ao tanque de maceração, após a estabilização proteolítica, para elevar a temperatura combinada da maceração para 62°C a 65°C.

A  $\alpha$ -amilase do malte é termoestável o suficiente para liquefazer o amido nas altas temperaturas utilizadas no tanque de adjunto. No entanto, o uso de uma  $\alpha$ -amilase termoestável (como a Amylex® 4T) é um método mais eficiente, por vários motivos, conforme mencionado abaixo.

### **BENEFÍCIOS DA AMYLEX® 4T**

Trata-se de uma  $\alpha$ -amilase muito mais termoestável do que as amilases do malte, permitindo menores tempos de processamento, liquefação mais simples e aumento na produtividade. Por causa da quantidade relativamente baixa de  $\alpha$ -amilase termoestável, necessária em relação ao malte, mais adjuntos podem ser colocados no tanque de cozimento. Ao se utilizar uma  $\alpha$ -amilase termoestável, não há risco de que o amido residual seja carregado do tanque de cozimento para o tanque de maceração. A presença de amido residual tem implicações para a extração, filtração da cerveja e formação de turbidez. Finalmente, o malte e suas enzimas podem ser preservados para o processo de sacarificação.

### **SEPARAÇÃO DO MOSTO**

A separação do mosto é um gargalo de processo comum nas cervejarias, em que uma drenagem de baixa qualidade ou filtragem do macerado resulta em uma capacidade de produção reduzida. Isso também pode fazer com que os rendimentos do extrato sejam reduzidos, e pode ainda ter um impacto negativo na qualidade do mosto, resultando em problemas de filtração e alteração de sabor, e estabilidade da cerveja.

Polissacarídeos não amiláceos são solubilizados a partir do malte, da cevada ou de outros cereais, durante o cozimento e a maceração. Eles aumentam a viscosidade do mosto, e também

criam outros problemas, caso sejam transportados sem serem degradados. O polissacarídeo não amiláceo mais significativo do malte e da cevada é o  $\beta$ -glucano, enquanto as arabinosilanas (pentosanas) predominam, tanto no trigo quanto no centeio.

Além de melhorar a separação do mosto, a degradação do  $\beta$ -glucano pode beneficiar o rendimento do extrato e a filtração da cerveja, resultando em um consumo reduzido de auxiliares de filtração, e menores custos de energia.

Devido ao crescente uso da filtração por membranas, as cervejas que normalmente não apresentam problemas na filtração de kieselguhr convencional podem apresentar dificuldades, conforme o material se acumula (por exemplo, as concentrações de  $\beta$ -glucano) em filtros de membrana.

Para resolver esses problemas, a Danisco desenvolveu a linha Laminex® de enzima  $\beta$ -glucanase/xilanase para uso nos processos de maceração e fermentação ou maturação.

### **BENEFÍCIOS DA LAMINEX® SUPER 3G**

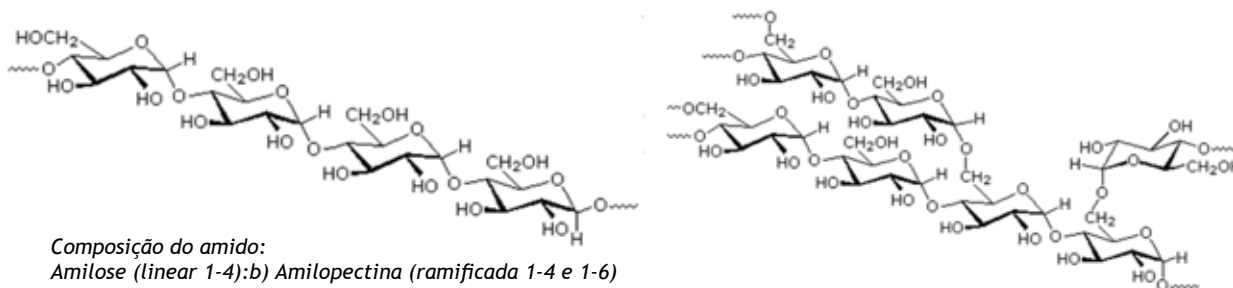
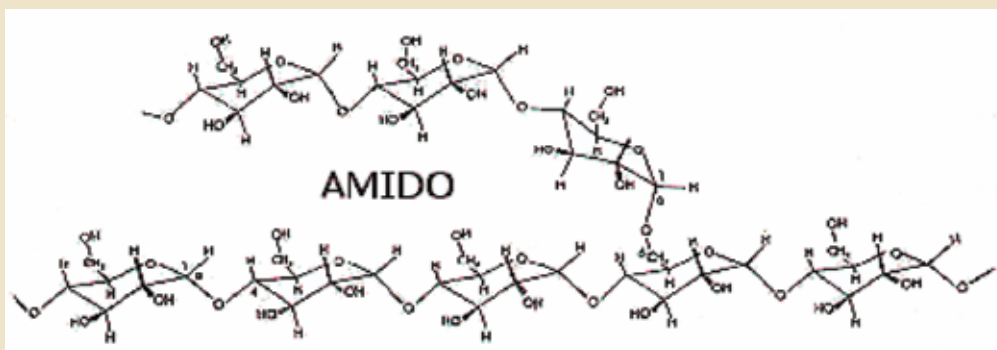
A Laminex® Super 3G é um complexo enzimático concentrado, desenvolvido especialmente para melhorar a separação do mosto na cervejaria, através da degradação das  $\beta$ -glucanas, xilanas (pentosanas) e outros polissacarídeos não amiláceos, responsáveis por maiores viscosidades, opacidades ou má desidratação dos resíduos. Ela é adicionada diretamente na maceração. Além disso, a Laminex® Super 3G melhora a filtração da cerveja.

### **AUMENTO DA FERMENTABILIDADE**

Apesar do malte poder produzir todas as enzimas necessárias para se fazer a hidrólise do amido em açúcares fermentáveis, a enzima desramificadora (dextrinase limite do malte) é muito instável ao calor, e é inativada durante a maceração, nas temperaturas necessárias para a gelatinização do amido. Portanto, uma vez que as ligações  $\alpha(1\rightarrow6)$  e algumas ligações complemen-

# Dossiê enzimas

tares  $\alpha(1\rightarrow4)$  em amilopectina não são hidrolisadas pelas amilases  $\alpha$  e  $\beta$  do malte, a fermentabilidade máxima em cervejas normais é tipicamente  $<70\%$  RDF (Grau Real de Fermentação). As enzimas exógenas, tais como as da linha Diazyme® da Danisco, podem ser utilizadas para controlar a fermentabilidade do mosto, e o fabricante da cerveja pode produzir uma série de cervejas com alto grau de atenuação, ou cervejas *low carb*,



Composição do amido:  
Amilose (linear 1-4):b) Amilopectina (ramificada 1-4 e 1-6)

através da adição dessas enzimas na maceração, ou durante a fermentação.

## BENEFÍCIOS DA DIAZYME® X4

A Diazyme® X4 é uma glicamilase de sacarificação, que pode hidrolisar ambas as ligações:  $\alpha(1\rightarrow4)$  e  $\alpha(1\rightarrow6)$  em amido. Essa enzima produz o maior aumento em fermentação, com valores de até  $83\%$  RDF, possíveis quando ela é adicionada na maceração. A Diazyme® X4 permite um bom controle da atenuação, para definir os valores e a produção de cervejas com alto grau de atenuação. A gluamilase é relativamente termotável e, quando utilizada no fermentador, pode resistir à pasteurização. Por esse motivo, a enzima é normalmente acrescentada na maceração.

## UMA LINHA COMPLETA DE PRODUTOS

Os fabricantes de cerveja podem procurar-nos, para a obtenção de suporte na produção de cervejas premium, inovadoras, ou de baixo custo, com a melhor qualidade. Nós podemos ajudá-los na otimização da eficiência do processamento na cervejaria e na produção de cervejas específicas, que ofereçam os devidos benefícios ao cliente.

Além de nossas enzimas de fer-

mentação, nossa linha Grindsted® Carrageenan BF Clear é especialmente desenvolvida para combater a opacidade no mosto. A carragena da Danisco é fácil de se adicionar, garantindo um alto nível de flexibilidade de processamento. Para a lavagem da levedura, o Nisaplin® Natural Antimicrobial pode ser usado como uma alternativa natural em relação ao ácido, na proteção da levedura.

Por fim, e igualmente importante, nossos açúcares e adoçantes especiais podem contribuir para um sabor (mouthfeel) de alta qualidade. O enriquecimento de fibras com Litesse® (polidextrose) ou a redução de açúcar, com nossas enzimas de fermentação Diazyme®, proporcionam oportunidades para se dar à cerveja a imagem positiva que grande parte dos consumidores de hoje em dia prefere.

## SUPORTE TÉCNICO

Nossas soluções de valor agregado baseiam-se nas mais recentes tecnologias, todas com total suporte de nossos especialistas. Instalações de aplicação bem equipadas para o desenvolvimento de novos produtos ou para a solução de problemas, bem como conceitos inovadores e inspiradores, fazem parte de nosso pacote completo de serviços.



## Food Enzymes

### SOBRE A DANISCO

Com um portfólio rico e inovador, a Danisco é líder mundial em ingredientes para alimentos, enzimas e soluções de base biológica. Usando matérias-primas naturais, e fundamentando-se na ciência e no conhecimento de seus colaboradores, a Danisco atende às exigências do mercado por produtos mais saudáveis e seguros. Seus ingredientes são utilizados globalmente em uma ampla gama de indústrias - desde panificação, lácteos e bebidas, à alimentação animal, detergentes e bioetanol - oferecendo benefícios funcionais, econômicos e ambientais

# DANISCO

First you add knowledge...

Danisco Brasil

[www.danisco.com](http://www.danisco.com)